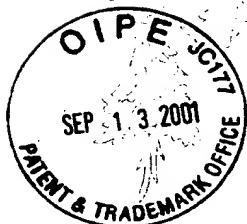


대한민국 특허청
KOREAN INDUSTRIAL
PROPERTY OFFICE



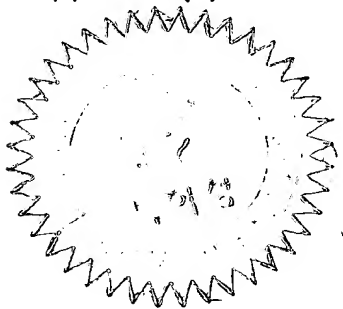
별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Industrial
Property Office.

출원번호 : 특허출원 2000년 제 49805 호
Application Number

출원년월일 : 2000년 08월 26일
Date of Application

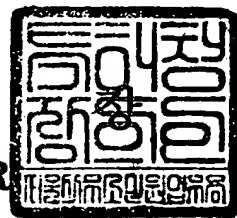
출원인 : (주)바이오니아
Applicant(s)



2000 년 12 월 14 일

특 허 청

COMMISSIONER



【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2000.08.26
【발명의 명칭】	비만 또는 당뇨병 치료용 미생물 및 상기 미생물을 포함하는 의약 조성물
【발명의 영문명칭】	Microorganisms for Corpulence or Diabetes Mellitus, or a pharmaceutical composition containing the same
【출원인】	
【명칭】	(주)바이오니아 대표이사 박한오
【출원인코드】	1-1998-106377-3
【대리인】	
【성명】	서근복
【대리인코드】	9-1998-000293-5
【포괄위임등록번호】	2000-041779-0
【발명자】	
【성명의 국문표기】	방영배
【성명의 영문표기】	BANG, Young Bae
【주민등록번호】	700220-1663226
【우편번호】	363-810
【주소】	충청북도 청원군 남이면 척북리 124 (주)바이오니아
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	정해중
【성명의 영문표기】	JOUNG, Hea Jung
【주민등록번호】	701013-1559515
【우편번호】	363-810
【주소】	충청북도 청원군 남이면 척북리 124 (주)바이오니아
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김봉철
【성명의 영문표기】	KIM, Bong Cheol
【주민등록번호】	710607-1343513

【우편번호】	363-810	
【주소】	충청북도 청원군 남이면 척북리 124 (주)바이오니아	
【국적】	KR	
【발명자】		
【성명의 국문표기】	김항래	
【성명의 영문표기】	KIM, Hang Rae	한 항래 김 Hano Rae
【주민등록번호】	730210-1471132	주민등록번호 730210-1471132
【우편번호】	363-810	
【주소】	충청북도 청원군 남이면 척북리 124 (주)바이오니아	
【국적】	KR	
【발명자】		
【성명의 국문표기】	박한오	
【성명의 영문표기】	PARK, Han Oh	한 오 박 Han Oh Park
【주민등록번호】	620516-1066622	주민등록번호 620516-1066622
【우편번호】	363-810	
【주소】	충청북도 청원군 남이면 척북리 124 (주)바이오니아	
【국적】	KR	
【우선권주장】		
【출원국명】	KR	
【출원종류】	특허	
【출원번호】	10-2000-0026379	
【출원일자】	2000.05.17	
【증명서류】	첨부	
【심사청구】	청구	
【미생물기탁】		
【기탁기관명】	생명공학연구소 유전자은행	
【수탁번호】	KCTC0773BP	
【수탁일자】	2000.05.03	
【미생물기탁】		
【기탁기관명】	생명공학연구소 유전자은행	
【수탁번호】	KCTC0774BP	
【수탁일자】	2000.05.03	

【취지】

특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인
서근복 (인)

【수수료】

【기본출원료】 20 면 29,000 원

【가산출원료】 27 면 27,000 원

【우선권주장료】 1 건 26,000 원

【심사청구료】 8 항 365,000 원

【합계】 447,000 원

【감면사유】 중소기업

【감면후 수수료】 236,500 원

【첨부서류】

1. 요약서·명세서(도면)_1통 2. 미생물기탁증명서_2통[특허출원 제2000-0026379호에 첨부된 것을 원용함] 3. 중소기업법시행령 제2조에 의한 중소기업에 해당함을 증명하는 서류_1통[특허출원 제2000-0013464호에 첨부된 것을 원용함] 4. 우선권증명서류 및 동 번역문_1통

【요약서】

【요약】

본 발명에는 장내에 서식하면서 장내로 유입되는 포도당, 자당 또는 과당 등을 체
 내로 흡수되지 아니하는 고분자 물질로 전환시켜 장에서 흡수되는 포도당, 자당 또는 과
 당의 양을 줄임으로써, 비만증 또는 당뇨병을 예방 하거나 치료할 수 있게 하는 신규한
 미생물들 및 그들의 약학적 유효량을 함유하는 조성물이 개시되어 있다.

【대표도】

도 2

【색인어】

단당류, 이당류,식이섬유, 미생물, 비만, 당뇨, 예방, 치료, 제제

【명세서】

【발명의 명칭】

비만 또는 당뇨병 치료용 미생물 및 상기 미생물을 포함하는 의약 조성물

{Microorganisms for Corpulence or Diabetes Mellitus, or a pharmaceutical composition

containing the same}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 본 발명에 의한 미생물의 포도당 흡수 속도를 보여주는 도표.

도 2는 본 발명에 의한 미생물 섭취시 혈당치의 변화를 보여주는 도표.

도 3은 본 발명에 의한 미생물을 섭취한 비만 마우스의 에너지 대사 효율 변화를 보여주는 도표.

도 4는 본 발명에 의한 미생물을 섭취한 마우스의 에너지 대사 효율 변화를 보여주는 도표.

도 5는 본 발명에 의한 미생물을 섭취한 마우스의 체중 변화를 보여주는 도표.

도 6은 약물 투여로 유도된 비만 마우스의 체중 변화를 보여주는 도표.

도 7은 약물 투여로 유도된 비만 마우스의 대사 효율 변화를 보여주는 도표.

도 8은 16S rRNA 염기 서열을 바탕으로 한 락토바실러스 균주 BC-Y009의 계통 분석도.

도 9는 16S rRNA 염기 서열을 바탕으로 한 아세토박터 균주 BC-Y058의 계통 분석도.

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<10> 본 발명은 포도당, 자당, 과당등의 단당류 또는 이당류를 장내에서 흡수되지 아니하는 고분자량의 물질로 전환시켜, 체내로 흡수되는 단당류 또는 이당류의 양을 줄임으로써, 비만 또는 당뇨병의 치료 또는 예방 효과를 나타내는 미생물 및 상기 미생물을 포함하는 의약 조성물에 관한 것이다.

<11> 비만은 아직도 원인이 명확히 밝혀지지 않은 여러 가지 요인들에 의해서 복합적으로 발생하는 만성적인 질환으로 알려져 있다. 비만은 고혈압, 당뇨, 심혈관 질환, 담석, 골관절염, 수면 무호흡증(sleep apnea), 호흡장애, 자궁내막, 전립선, 유방 또는 대장암등을 유발하는 요인이 되고 있다.

<12> 1999년 미합중국 국립보건원(NIH) 보고서(The Evidence Report : Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults, 1999, NIH)에 의하면, 미국인 가운데 약9,700만명이 비만상태에 있으며, 비만과 관련된 질환 중의 하나인 제2형 당뇨(type 2 diabetes mellitus)환자가 약 1,570만명에 이른다. 또한, 비만과 관련된 질환에 의하여 매년 전세계적으로 약20만명이 사망한다고 알려져 있다(Dan Ferber, Science, 283, pp 1423-1424, 1999).

<13> 당뇨병은 환자나 그들 가족뿐만 아니라 사회에게 상당한 개인적 및 재정적 비용이 요구되는 전세계적으로 가장 널리 퍼진 만성 질환의 하나이다. 별개의 병인 및 발병 기작을 갖는 상이한 당뇨병 유형들이 존재한다. 예를 들면, 진성 당뇨병은 과혈당증 및

당뇨로 특징지어지며, 인슐린의 부적절한 생성이나 이용으로 야기되는 탄수화물 대사 장애이다.

<14> 비인슐린-의존성 진성 당뇨병(NIDDM), 또는 유형 II 당뇨병은 인슐린이 적절하게 생성되어 이용되나, 말초조직에서 인슐린이 매개된 이용 및 글루코오스 대사에서 결점야기하는 성인에게서 주로 나타나는 당뇨병이다.

<15> NIDDM는 3가지 주요한 대사적 이상, 인슐린이 매개하는 글루코오스 처리에 대한 저항, 영양물로 자극되는 인슐린 분비 능력의 손상 및 간에서 글루코오스의 과생성에 기인한다. NIDDM 치료 (즉, 혈당 수준의 조절)에 실패하면 심혈관 질환으로 인한 사망 및 망막증, 신장병 및 말초 신경병을 비롯한 다른 당뇨병 합병증을 야기할 수 있다.

<16> NIDDM의 치료법에는 NIDDM 환자의 혈당 수준을 조절하는 방법으로서, 식이요법 및 운동 뿐만 아니라 술폰일 요소 및 비구아니드 치료 화합물등의 사용이 포함된다. 또한, 메트포민 및 아카르보스 화합물도 최근에 NIDDM 환자를 치료하는데 사용되고 있다. 그러나, 몇몇 환자에게는 과혈당증이 식이요법과 운동 및 그러한 치료 화합물을 사용에 의해서도 적절하게 조절되지 못한다. 그러한 경우에는, 환자에게 외인성 인슐린을 투여해야 한다.

<17> 환자에게 주사로 인슐린을 투여하는 것은 고가이며 고통스러운점 이외에도, 환자에게 해로운 다양한 상황 또는 합병증을 야기할 수 있다. 예를 들면, 인슐린 반응 (저혈당증)은 인슐린 투여량의 착오, 결식, 불규칙한 운동 또는 특별한 원인 없이도 야기될 수 있다. 또한, 국소적 또는 전신 알레르기 반응 및 인슐린에 대한 면역학적 저항성이 발생될 수도 있다.

<18> 비만 및 당뇨의 예방 또는 치료방법은 크게 식이-운동요법, 수술 요법 및 약물 요법이 있다. 식이-운동 요법은 저칼로리-저지방 섭취와 산소를 소비하는 육체의 활동을 통한 치료 방법인데, 이는 인내심을 가지고 반복적, 지속적으로 수행되어야 하기 때문에 대증적인 효과를 보기는 어려운 것으로 인식되고 있다.

<19> 수술요법은 외과적 수술을 통해 체지방을 물리적으로 제거하는 방법으로서 단기간에 효과를 볼 수 있는 장점이 있지만, 수술을 해야하는 점, 효과의 지속성이 없다는 점, 비용이 많이 든다는 점 등 때문에 제한적으로 활용되고 있다.

<20> 혈당을 감소시키거나, 혈당의 흡수를 저해하거나, 인슐린의 작용을 강화 시키거나, 식욕의 감소를 유발하는 약제들에 의해서 비만 또는 비만형 당뇨를 치료 또는 예방하고자 하는 약물 요법이 현재 가장 활발하게 연구되는 방법이다. 현재까지 개발된 비만 및 비만형 당뇨의 예방 및 치료를 위한 약제는 다양한 생리학적 메카니즘을 이용하고 있다.

<21> 인슐린의 작용을 증가시키는 약물로서, 술폰닐우레아, 메트포르민, 피오글리타존, 타아졸리딘디온 유도체 등이 개발되었다. 술폰닐우레아는 췌장의 베타세포로부터의 인슐린 분비를 자극하는 작용을 하지만, 혈중의 포도당 농도를 정상이하로 낮추는 저혈당증의 부작용을 유발할 수 있다.

<22> 메트포르민은 식이요법이나 운동요법으로 회복되지 않는 인슐린-비의존성 당뇨 환자에 주로 사용된다. 이 약제는 간에서의 당신생(hepatic gluconeogenesis)의 과정을 억제하고, 포도당을 근육과 지방조직에 저장하도록 한다. 그러나, 구토, 설사 등의 부작용이 있는 것으로 알려져 있다.

<23> 피오글리타존은 일본의 다케다사가 개발한 것으로서, 인슐린의 세포에 대한 감수성을 증가시켜 인슐린의 작용을 강화하는 역할을 한다(Kobayashi M. *et al.*, Diabetes, 41(4), pp 476-483, 1992).

<24> 체내 지방의 분해를 촉진하는 약물로서는 Beta 3-adrenoreceptor 저해제(BRL-35135)가 알려져 있는데, 현재 지방세포에 특이적으로 작용하여 지방세포의 지방을 분해하여 열로 발산시키는 동시에 혈당치 강하 효과를 나타낸다.

<25> 지방의 흡수 억제 약물로서는 체장 지방 분해 효소 방해제(Orlistat:스위스의 Roche 사)가 알려져 있는데, 체장 지방 분해 효소의 작용을 억제함으로써 지방의 흡수를 감소시키는 약제이나 지용성 비타민의 흡수를 방해하며, 유방암 유발의 가능성이 있다.

<26> 식욕을 저해하는 약제는 주로 뇌에 존재하는 신경전달물질(catecholamines)에 작용하여 식욕을 저하시킨다. 그러나 텍스펜플루르아민, 펜플루르아민은 신경독성, 판막성 심장질환의 부작용이 있고, 시부트라민은 심박수와 혈압을 상승시키는 부작용이 있다.

<27> 당 흡수 억제 관련 치료제로서, α -글루코시다제 저해제(Acarbose:독일Bayer사), 아밀라제 저해제, 식이섬유, 고분자물질 등이 있다. 아카르보제는 위장관 내의 미세융모(microvilli)에 존재하는 여러가지 α -글루코시다제의 작용을 경쟁적으로 억제하는 것으로 알려진 슈도-올리고사카라이드(위과당류)이다. 이를 다량을 섭취하였을 때 설사를 일으킬 수 있다(W. Puls *et al.*, Front. Horm. Res. 2, 235, 1998).

<28> 아밀라제 저해제는 탄수화물을 포도당으로 전환시키는 아밀라제의 작용을 억제함으로써 과도한 영양분의 섭취로부터 초래되는 대사 불균형을 막기 위해 개발되었다(Sanchez-Monge R. *et al.*, Eur. J. Biochem., 183, pp 37-40, 1989).

<29> 식이 섬유 섭취는 가장 손쉬운 방법중의 하나로서 식물성 섬유가 많은 식이를 통해서 소장에서 흡수되는 당분의 양을 줄여 주어 비만 억제 효과를 얻게 된다. 그러나, 식이 섬유는 생산을 위한 설비 투자와 인력이 많이 요구되고, 식이 섬유의 생산성 또한 그리 높지 않다는 문제가 있다.

<30>와-분 고분자물질로서는 이소말토트리오제, 텍스트란 및 폴란을 들 수 있는데, 이들 고분자 물질은 당분의 섭취에 따른 혈당량의 증가를 억제시키기는 하지만 부작용이 심하다. 예를 들어, 텍스트란은 혈액의 응고시간(blood coagulation time)을 지연시킴으로써 과다 출혈을 유발할 수 있다.

<31> 그러나, 상기와 같은 다양한 약제들 중에서 인체의 대사 균형에 손상을 주지 않으며, 천연물질이라는 점때문에 식이섬유가 가장 유용한 비만 예방 또는 치료제제로 인정되고 있다.

<32> 미생물 식이섬유는 글루코노박터 속(*Gluconobacter sp.*), 아그로박테리움 속(*Agrobacterium sp.*), 아세토박터 자일리눔(*Acetobacter xylinum*), 아세토박터 한세니(*A. hansenii*), 아세토박터 파스테리아누스(*A. pasteurianus*), 아세토박터 아세타(*A. aceti*), 라이조븀 속(*Rhizobium*), 알칼리게네스 속(*Alcaligenes*), 살리나 속(*Sarcina*), 스트렙토코커스 써모필루스(*Streptococcus thermophilus*), 락토코커스 크레모리스(*Lactococcus cremoris*), 락토바실러스 헬베티쿠스(*Lactobacillus helveticus*), 락토바실러스 불가리쿠스(*L. bulgaricus*), 락토바실러스 사케(*L. sake*), 락토바실러스 류테리(*L. reuteri*), 락토바실러스 락티스(*L. lactis*), 락토바실러스 델브룩키의 아종(*L. delbrueckii subsp.*), 락토바실러스 헬베티쿠스글루코스의 변종(*L. helveticusglucose var. jugurti*), 류코노스톡 텍스트라니쿰 (*Leuconostoc dextranicum*), 불가리쿠스 속(

있다. 최근에는 설사나 변비 예방 또는 요로 감염의 예방 외에 락토바실러스의 다양한 생리활성 기능(probiotic activity) 즉, 면역력의 조절, 혈중 콜레스테롤 수치 조절, 류마티즘의 치료, 암의 예방, 유당에 대한 민감성 완화, 아토피성 피부염에 대한 효과 등 다양한 효능에 대한 중요성과 관심이 증가하고 있다.

<36> 미국의 공중건강 가이드라인(U.S. Public Health Service guidelines)에 의하면, 현재 미국 균주기탁기관(ATCC)에 기탁된 262가지의 락토바실러스 균주 모두가 인체나 동물에 질병을 유발할 잠재적 위험에 대해서는 알려진 것이 없다고 인정되는 '안전수준' (Bio-safety Level) 1로 분류되어 있다. 60 여개의 락토바실러스 속에 속하는 균주중에 현재까지 인체 독성을 지닌 것으로 알려진 것은 없다.

<37> 최근의 락토바실러스가 합성하는 세포외 식이섬유에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는데, 이들 균주가 세포외 식이섬유를 만드는 기작에는 많은 유전자가 관여하기 때문에 아주 복잡하며, 합성되는 식이섬유의 양 또한 매우 적은 것으로 알려져 있다.(Int. J. Food Microbiol., Mar 3 40:1-2, 87-92, 1998; Current Opinion in Biotechnology, 10:498-504, 1999; Current Opinion in Microbiology, 2:598-603, 1999; Appl. Environ. Microbiol., Feb 64:2, 659-64, 1998; FEMS Microbiol. Rev., Apr 23:2 153-77, 1999; FEMS Microbiol. Rev., Sep 7:1-2, 113-30, 1990. 참조)

<38> 또한 아세트박터(*Acetobacter* sp.)는 셀룰로오스 식이섬유를 합성하는 미생물로 잘 알려져 있는데, 이들의 셀룰로오스 합성에 대해서는 많은 연구가 이루어지고 있다.(Aloni Y., Cohen R., Benziman M., Delmer D, J Biological Chemistry, 258:4419-4423, 1983; Amikam, Benziman M., Journal of Bacteriology, 171:6649-6655, 1989; Aschner M., J Bacteriology, 33:249-252, 1937; Benziman M., Burger-Rachamimov

H., J Bacteriology, 84:625-630, 1962; Brown AM, Journal of Polymer Science, 59:155-169, 1962; Brown AM, Gascoigne JA, Nature, 187:1010-1012, 1960; Colvin JR, Planta, 149:97-107, 1980; Delmer DP, Amor Y., Plant Cell, 7:987-1000, 1995; Delmer DP, Benziman M., Padan E., PNAS USA, 79:5282-5286, 1982; Delmer DP, Brown RM Jr.,

nes)에 대한 Cooper JB, Lin FC, Science, 230:822-825, 1985. 참조) reference 30.822-825

<39> 아세토박터는 편성 호기성(strict aerobe)이지만, 극미량의 산소 존재 조건하에서
 산소 농도가 낮아도 생육할 수 있는 특성을 가지고 있고, 산소가 적게 존재하는 조건에서는 스스로 셀룰
 로오스 식이섬유를 합성하여 부유하여 산소를 공급 받으려는 성질을 가지고 있다. 아세

토박터가 포도당을 셀룰로오스 식이섬유로 전환시키는 양과 속도에 관한 연구(Brown *et al.*; Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol73(12), 4565-4569)에 따르면, 약400amol/cell/hr
 속도로 포도당을 셀룰로오스로 전환시킨다고 한다. 이는 4×10^{15} cells이 한시간에 약
 200g의 포도당을 셀룰로오스 식이섬유로 전환 시킬 수 있는 속도이다.

<40> 일반적으로 아세토박터가 자당을 대사한다고 보고된 경우는 드물지만, 자연계에는
 자당을 포도당으로 전환시킬 수 있는 아세토박터가 존재한다(PNAS, 96: pp 14-18,
 1999). 현재 미국FDA에는 아세토박터 자일리눔(*Acetobacter xylinum*)이 초산과 솔보스
 (sorbos)를 합성하는 용도로 승인이 되어있고, 일반적 안전성이 있는 것으로(GRAS,
 Generally Accepted As Safe)분류되어 있다.

<41> 상기한 바와 같이, 현재까지 비만 또는 당뇨의 치료에 관하여 다양한 연구와 노력
 이 있어왔지만 아직까지 그 결과는 미미한 수준이다. 상기에 언급한 여러 가지 화합물
 들이 비만 또는 당뇨병 치료제로 개발되었지만 부작용이 발생하고 있으며, 이들은 체내

에 축적된 체지방, 단백질등을 강제적으로 배출하는 기능을 하며, 비만 또는 당뇨를 원천적으로 억제하거나 치료하는 획기적인 치료제는 아직까지 없는 실정이다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

본 발명의 목적은 장내에서 성장하면서 소화 효소에 의해 분해된 저당류 탄수화물을 흡수하여 체내로 흡수되지 아니하는 고분자량의 물질로 전환시킴으로써, 장에서 체내로 흡수되는 저당류의 양을 크게 줄일 수 있는 미생물을 제공하는 것이다.

본 발명의 또 다른 목적은 상기 미생물의 약학적 유효량을 함유하여, 체내로 흡수되는 저당류의 양을 원천적으로 감소시킴으로써, 비만 또는 당뇨병을 예방 또는 치료하기 위한 의약 조성물을 제공하는 것이다.

【발명의 구성 및 작용】

본 발명의 미생물은 장내에서 생장이 가능하고, 인체에 무해하며, 저당류를 체내에서 흡수되지 아니하는 고분자량의 물질로 전환시키는 아세트박터 속, 글루코노박터 속, 락토바실러스 속 또는 아그로박테리움 속에 속하는 균주인 것이 바람직하다. 구체적인 예를 들면, 아세트박터 자일리눔(*Acetobacter xylinum*), 아세트박터 한세니(*A. hansenii*), 아세트박터 파스테리아누스(*A. pasteurianus*), 아세트박터 아세티(*A. aceti*), 락토코커스 크레모리스(*Lactococcus cremoris*), 락토바실러스 헬베티쿠스(*Lactobacillus helveticus*), 락토바실러스 불가리쿠스(*L. bulgaricus*), 락토바실러스 사케(*L. sake*), 락토바실러스 류테리(*L. ruteri*)

L. reuteri), 락토바실러스 락티스(*L. lactis*), 락토바실러스 델브룩키의 아종(), 락토바실러스 헬베티쿠스글루코스의 변종() 등이 본 발명의 조성물에 사용될 수 있다. 본 발명의 조성물에 사용되는 미생물은 락토바실러스 속 BC-Y009 (KCTC0774BP) 균주와 아세트산균 속 BC-Y058 (KCTC0773BP) 균주인 것이 특히 바람직하다.

<45> 본 발명의 미생물들은 통상적으로, 투여 경로에 따라 선택되는 약학적 담체 및 부형제, 또는 보조 유효 성분등과의 혼합에 의해서 얻어지는 정제 또는 캡슐과 같은 단위 형태로 투여된다.

<46> 본 발명의 조성물에 적합한 담체, 부형제 및 희석제에는 락토스, 텍스트로스, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 전분, 아카시아검, 인산칼슘, 알긴산염, 트래거캔스 고무, 젤라틴, 규산칼슘, 미세결정질 셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈, 셀룰로오스, 물, 시럽, 메틸 셀룰로오스, 메틸 및 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 스테아르산마그네슘 또는 광유등이 포함된다. 본 발명의 미생물 조성물은 추가로 윤활제, 습윤제, 유화제 및 현탁화제, 방부제, 감미제 또는 향미제를 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 조성물은 당업계에 공지된 방법을 사용하여, 위장을 통과한 뒤 소장에도달하여 활성 성분인 미생물이 신속하게 장내에 방출되도록 장용 피복 제제로 제조될 수 있다.

<47> 또한, 본 발명의 미생물 조성물은 통상적인 캡슐화 방법을 사용하여 캡슐 형태의 조성물로 제조될 수 있다. 예를 들어, 표준 담체를 사용하여 동결 건조시킨 본 발명의 미생물을 함유하는 펠렛을 제조한 후, 이를 경질의 젤라틴 캡슐내에 충전시킬 수 있다. 또는, 본 발명의 미생물과 임의의 적절한 제약학적 담체, 예를 들어 수성 겔, 셀룰로스, 규산염 또는 오일을 사용하여 현탁액, 분산액을 제조한 후, 이러한 분산액 또는 현탁액을 연질의 젤라틴 캡슐 내에 충전시킬 수도 있다.

<48> 본 발명의 제제는 특히, 경구용 단위 제형으로서 장용 피복된 장용성 제제로서 제 공될 수 있다. 본 명세서에서의 '장용 피복'은 위산에 의해서는 분해되지 아니하여 피복 이 유지되나, 소장에서는 충분히 분해되어 활성 성분이 소장내에 방출될 수 있도록 하는, 제약학상 허용 가능한 모든 종류의 공지의 피복을 포함한다.

<49> 본 발명의 '장용 피복'은 pH 1의 HCl 용액과 같은 인공 위즙을 36 내지 38 °C에서 접 촉시킬 때, 2 시간 이상 동안 그대로 유지되며, 바람직하게는 이후에 pH 6.8의 KH_2PO_4 완충 용액과 같은 인공 장즙에서 30 분 이내에 분해되는 피복을 지칭한다.

<50> 본 발명의 장용 피복은 1 개의 코어에 약 16 내지 30, 바람직하게는 16 내지 20 또는 25 mg 이하의 양으로 피복된다. 본 발명의 장용 피복의 두께가 5 내지 100 μm , 바람직하게는 20 내지 80 μm 인 경우가 장용 피복으로서의 만족스러운 결과를 나타내었다. 장용 피복의 재료는 공지의 고분자 물질들 중에서 적당히 선택된다. 적당한 고분자 물 질은 문헌 [L. Lachman 외, The Theory and Practice of Industrial Pharmacy, 3판, 1986, pp. 365-373, H. Sucker 외, Pharmazeutische Technologie, Thieme, 1991, pp. 355-359, Hagers Handbuch der pharmazeutischen Praxis, 4판, Vol. 7, pp. 739 내지 742, 및 766 내지 778, (SpringerVerlag, 1971), 및 Remington's Pharmaceutical Sciences, 13판, pp. 1689 내지 1691 (Mack Publ., Co., 1970)]에 열거되어 있고, 셀룰 로오즈 에스테르 유도체, 셀룰로오즈 에테르, 아크릴 수지의 메틸아크릴레이트 공중합체 및 말레산 및 프탈산 유도체의 공중합체가 이들에 포함될 수 있다.

<51> 본 발명의 바람직한 장용 피복은 셀룰로오즈 아세테이트 프탈레이트 및 트리멜리테이트 그리고 메타크릴산 공중합체 (예를 들면, 메틸아크릴산 40% 이상, 및 특히 히드록 시프로필 메틸셀룰로오즈 프탈레이트를 포함하는 메틸아크릴산 및 그의 에스테르로부터

유도된 공중합체)로부터 제조된다.

<52> 롬 게엠베하사 (Rohm GmbH, 독일)에 의해 시판 중인 엔드라지트 엘 (Endragit L 100-55)제품이 본 발명의 장용 피복의 재료로 사용될 수 있다.

<53> 본 발명의 장용 피복용 셀룰로오즈 아세테이트 프탈레이트는 약 45 내지 90 cP의 점도와, 17 내지 26 %의 아세틸 함량 및 30 내지 40 %의 프탈레이트 함량을 가지며, 셀룰로오즈 아세테이트 트리멜리테이트는 약 15 내지 20 cS의 점도와, 17 내지 26 %의 아세틸 함량, 25 내지 35%의 트리멜리틸 함량을 갖는다. 이스트맨 코닥 컴퍼니 (Eastman Kodak Company)사가 시판하는 셀룰로오즈 아세테이트 트리멜리테이트 제품이 본 발명의 장용 피복 재료로서 사용될 수 있다.

<54> 본 발명의 장용 피복 재료로서 사용되는 히드록시프로필 메틸셀룰로오즈 프탈레이트는 통상적으로, 20,000 내지 100,000 달톤, 바람직하게는 80,000 내지 130,000 달톤의 분자량을 갖고, 5 내지 10 %의 히드록시프로필 함량, 18 내지 24 %의 메톡시 함량 및 21 내지 35 %의 프탈릴 함량을 갖는다. 이스트맨 코닥사가 시판하는 셀룰로오즈 아세테이트 프탈레이트가 본 발명의 장용 피복의 재료로서 사용될 수 있다.

<55> 본 발명의 장용 피복에 사용될 수 있는 히드록시프로필 메틸셀룰로오즈 프탈레이트는 신-에쓰 케미칼사 (Shin-Etsu Chemical Co. Ltd., 일본)가 시판하는 HP50이며, 이는 6 내지 10 %의 히드록시프로필 함량, 20 내지 24 %의 메톡시 함량, 21 내지 27 %의 프탈릴 함량과 84,000 달톤의 분자량을 갖는 제품이다. 또한 신-에쓰 케미칼사가 HP55로 시판 중인, 히드록시프로필 함량이 5 내지 9 %, 메톡시 함량이 18 내지 22 %, 프탈릴 함량이 27 내지 35 %이고 분자량이 78,000 달톤인 제품이 본 발명의 장용 피복 재료로 사용될 수 있다.

<56> 본 발명의 장용 피복은 장용 피복 용액을 코어에 분무하는 통상적인 장용 피복법을 사용하여 제조될 수 있다. 장용 피복 공정에 사용되는 적당한 용매로는 에탄올과 같은 알콜, 아세톤과 같은 케톤, CH_2Cl_2 와 같은 할로젠화 탄화수소 용매이며 이들 용매들의

혼합 용매가 사용될 수도 있다. 디-n-부틸프탈레이트 또는 트리아세틴과 같은 연화제를 1 내지 10 중량부를 기준으로 1 내지 약 0.05 내지 약 0.3 (코팅 재료 대연화제)의 비율로 피복 용액에 첨가한다.

<57> 분무 과정을 연속적으로 수행하는 것이 적절하며 피복의 조건을 고려하여 분무량을 조절하는 것이 가능하다. 분무압은 다양하게 조절할 수 있고, 일반적으로 약 1 내지 약 10 bar의 분무압으로 만족할만한 결과가 얻어진다.

<58> 본 명세서의 '약학적 유효량'은 포유 동물의 장내에서 체내로 흡수되는 저당류의 양을 감소시킬 수 있는 본 발명 미생물의 최소량을 의미하며, 본 발명의 조성물에 의하여 체내에 투여되는 미생물의 양은 투여 경로, 투여 대상을 고려하여 조정된다.

<59> 본 발명의 조성물은 대상 개체에 매일 일회 이상 투여될 수 있다. 단위 투여량은 사람 피험자 및 다른 포유 동물을 위한 단위 투여에 적합하게 물리적으로 분리된 단위를 의미하며, 각 단위는 적절한 제약학적 담체를 포함하며 치료 효과를 나타내는 본 발명의 미생물의 예정된 양을 함유한다.

<60> 성인 환자의 경구 투여용 투여 단위는 본 발명의 미생물 0.1g 이상을 함유하는 것이 바람직하며, 본 발명의 조성물 경구 투여량은 일회에 0.1 내지 10g, 바람직하게는 0.5 내지 5g이다. 본 발명의 미생물의 약학적 유효량은 0.1g/1일이다.

<61> 그러나, 투여량은 환자의 체중, 비만 증상의 심각도 및 사용되는 미생물과 보조 유효 성분에 따라 가변적이다. 또한, 일일 총 투여량을 여러회로 분할하여 필요에 따라

연속적으로 투여할 수 있다. 따라서, 상기 투여량 범위는 어떠한 방식으로든 본 발명의 범위를 제한하지 아니한다.

<62> 본 명세서의 '조성물'은 반드시 의약품으로 허가되는 것만을 의미하는 것은 아니고, ~~화통상적인~~ 기능성 식품 또는 건강 보조 식품까지 포함하는 개념이다.

<63> 본 발명의 조성물을 주기적으로 복용하는 경우, 장내에 본 발명의 미생물들이 균총을 이루면서 인체가 당류를 흡수하는 것을 경쟁적으로 방해할 뿐 아니라, 미생물 생산에 의한 비소화성 식이섬유가 장내 유용균의 생육조건을 좋게 하고 장운동을 자극함으로써 결과적으로 본 발명의 조성물이 비만 또는 당뇨의 예방 및 치료제로 기능하는 것이다.

<64> 이하 본 발명을 보다 상세히 설명한다.

<65> 제 본 발명의 비만 또는 당뇨의 예방 및 치료용 미생물은 ① 장내에서 증식이 가능하며, ② 저당류를 빠르게 흡수하여 섬유상 물질과 같은 비소화성 또는 난소화성 고분자물질로 전환시키고, ③ 인체 또는 가축에 해가 없다는 조건을 만족시킨다. 따라서, 상기

3가지 조건을 만족시키는 공지의 미생물을 각종 기탁기관으로부터 분양받아 본 발명의 조성물에 사용할 수 있으며, 신규의 미생물을 새로이 분리하여 사용할 수도 있다.

<66> 본 발명자들은 본 발명 조성물에 사용될 수 있는 신규의 미생물을 하기와 같은 방법으로 분리 동정하였다.

<67> 제당공장 하수와 그 밖의 다양한 지역으로부터 채취한 혼합물 시료를 시클로헥시미드가 함유된 MRS 한천배지 및 BHS 한천배지에 접종하여 배양하였다. 생성된 콜로니를 MRS 및 BHS 액체배지에 접종하고, 정치 배양하여 배지 상층에 매트릭스 형태의 막 또는 캡슐 형태의 막을 생성하는 균주를 선발하였다. 형성된 막을 분리하고 분리된 막이 장

내 소화효소에 의해 분해되는지 여부를 확인하여 비소화성(또는 난소화성) 고분자 물질을 생성하는지 여부를 판별하였다. 이중 특히 세포의 다당류(식이섬유)를 다량 생성하는 균주 BC-Y009, BC-Y058을 선택하였다.

<68> BC-Y009 및 BC-Y058균주를 형태학적으로 관찰하고, 16S rRNA의 부분 염기서열의 유사성을 비교한 결과, 이들은 각각 락토바실러스 및 아세트박터와 높은 유사성 나타내 보였으므로, 표현형(phenotype)과 16S rRNA 염기서열 분석을 바탕으로 균주 BC-Y009는 산성 락토바실러스 속의 균주인 락토바실러스 속에 속하며, BC-Y058균주는 신규한 아세트박터 속에 속하는 균주인 아세트박터로 동정되었다.

<69> 본 발명의 락토바실러스 BC-Y009와 아세트박터 BC-Y058를 비만과 당뇨병을 유발하는 마우스에 투여한 결과, 마우스의 혈당치가 투여 전에 비해 약 70% 정도로 감소된 반면, 정상 마우스의 경우 혈당치의 감소는 미미하였다.

<70> 이와 같은 결과에 의해, 본 발명의 미생물이 혈당치를 감소시키는데 효과가 있으며, 이에 따라 당뇨병 치료 및 예방에 효과적이며, 정상 인체에 적용하더라도 종래 다른 비만증 치료제와는 달리 저혈당 증상 부작용이 발생하지 않음을 알 수 있었다. 본 발명에 의한 균주 BC-Y009, BC-Y058를 비만 및 당뇨가 유발된 마우스에, 투여하면 정상 마우스에 비하여 사료 섭취량이 17 내지 24% 증가되나, 사료 섭취량 대비 몸무게 증가 효율이 크게 감소하였다. 이는 본 발명에 의한 미생물 조성물을 인간이 섭취하는 경우, 식욕에 따라 충분히 음식물을 섭취하더라도 비만이나 당뇨의 우려가 적어짐을 의미한다.

<71> 본 발명에 의한 미생물을 섭취하는 경우, 혈청 지질량 또한 그렇지 않은 대조군 보다 적게 나타나기 때문에 본 발명의 미생물 및 미생물 조성물이 비만, 당뇨 및 순환기성 질병(동맥경화, 심근경색 등)에 효과가 있음을 알 수 있다. 나아가 일반 마우스의 경

우에는 본 발명의 미생물 조성물을 투여한 군이 식이를 약간 더 많이 섭취하여 비투여 대조군에 비하여 에너지 효율이 다소 감소되는 결과를 나타내었으나, 지질 함량의 변화는 거의 볼 수 없는 등 정상 마우스에서 제제 투여에 따른 부작용은 발생하지 아니하였

다.

<72> 이하, 본 발명을 실시예를 통해 보다 상세히 설명한다. 그러나, 하기 실시예는 본 발명을 설명하기 위한 것일 뿐 본 발명의 권리 범위를 본 실시예로 한정하고자 하는 의도가 아니다.

<73> <실시예1>

<74> 토양 시료로부터 세포외 다당류를 생성하는 미생물 선별

<75> 식이섬유를 생성하는 미생물을 분리하기 위해 제당공장 하수와 그 밖의 다양한 지역에서 채취한 시료들 10g씩을 취해 잘게 부순 다음, 이들을 각각 생리 식염수(0.85% NaCl) 90 ml에 분산시켰다. 이 분산액들을 생리 식염수로 10^{-2} , 10^{-4} 및 10^{-6} 로 희석한 후, 이들 희석액을 100 ml 당 1 mg의 시클로헥시미드를 함유한 MRS[1% 펩톤, 1% 쇠고기 추출물, 0.5% 효모추출물, 2% 포도당, 0.1% 트윈-80(Tween-80), 0.2% 시트르산-암모늄, 0.5% 아세트산 나트륨, 0.01% $MgSO_4$, 0.005% $MnSO_4$, 0.2% 인산 나트륨, pH6.5] 한천 배지와 BSH(2% 포도당, 0.5% 펩톤, 0.5% 효모추출물, 0.27% Na_2HPO_4 , 0.115% 구연산, pH5.0)(Hestirin and Schramm, J. Gen. Microbiol., 11:123, 1954 참조) 한천 배지에 도말하여 30℃에서 72 시간 동안 배양하였다.

<76> 이렇게 수득한 약 2,000 콜로니를 5ml MRS 액체배지와 BSH 액체배지에 1차로 접종한 다음, 30℃에서 72시간 정치 배양하였다. 액체 배지 상층에 매트릭스 형태의 막을

생성하는 균주와 액체 배지가 투명하면서 캡슐모양의 세포의 다당류를 형성하는 균주를 선발하였다. 이들은 재차로 5 ml MRS 액체 배지와 BSH 액체 배지에 접종하여 30℃에서 교반하고 600 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이들을 흡광도가 0.2가 되도록 BSH 액체 배지로 희석한 다음, 여기서 10 ml을 취해 100 ml의 BSH 액체 배지에 접종하고 30℃에서 72시간 동안 정치배양하였다.

생성된 세포의 식이섬유의 양을 측정하기 위해 각각의 배양액을 4℃, 6,000 rpm에서 원심분리하여 미생물 침전물을 얻었다. 균체에 붙어있는 막을 0.1 N NaOH로 알칼리 용해시킨 다음, 80℃에서 30분간 정치하고, 재차 4℃, 6,000 rpm에서 원심분리하는 과정을 수차례 반복하였다. 백색 실타래처럼 엉켜있는 세포의 다당류를 분리하고, 동결 건조시켜서 그 양을 측정하였다. 이중 세포의 다당류의 양을 많이 생성시킨 균주를 선발하여 세포의 다당류 생성량을 비교하였다(표 1).

<78> 【표 1】

세포의 다당류 생성량 비교

선별번호	생성된 세포 외 다당류 양 (건조무게 g/ℓ BSH)
BC-Y 009	3.8
BC-Y 002	4.2
BC-Y 015	3.2
BC-Y 026	4.1
BC-Y 058	4.8
BC-Y 112	3.0
BC-Y 130	3.4
BC-Y 201	3.3

<79> <실시예2>

<80> 선별된 균주 BC-Y058, BC-Y009의 형태적인 특성 및 동정

<81> 실시예 1로부터 선별한 균주 중 다당류 생성량이 많은 BC-Y009, BC-Y002, BC-Y015, BC-Y026, BC-Y058, BC-Y112, BC-Y130, BC-Y201의 부분적인 염기서열을 결정한 결과,

BC-Y009, BC-Y002, BC-Y015, BC-Y026은 락토바실러스 속의 박테리아이었고 BC-Y058, BC-Y112, BC-Y130, BC-Y201는 아세트박터 속의 미생물인 것으로 판단되었다.

<82> 이 중에서도 식이섬유 생성량이 많은 BC-Y009, BC-Y058을 각기 MRS와 BSH 액체배지에 접종하여 30℃에서 72시간동안 현탁 배양하였다. 배양액을 4℃, 6,000rpm에서 원심 분리하여 미생물을 수득하고, 이로부터 CTAB/NaCl 방법을 사용하여 핵산을 추출하였다. 핵산 추출물을 16S rRNA 교감 프라이머(16S rRNA consensus primer)를 이용하여 중합효소연쇄반응법(PCR)에 의해 16S rRNA를 증폭하고 염기서열을 결정하였다. 결정된 염기서열에 대하여 BLAST 분석(NCBI, USA)을 실시한 결과, 락토바실러스 힐가디(*L. hilgardii*), 아세트박터 자일리눔(*A. xylinum*), 글루코노박터(*Gluconobacter* sp.)를 비롯한 다수의 락토바실러스 종, 아세트박터 종과 높은 염기서열 유사성을 보였다(표 2 및 표 3 참조).

<83> 【표 2】

락토바실러스 (*Lactobacillus* sp.) BC-Y 009 의 16S rRNA 염기서열 유사성비교

	BC-Y009	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>Delbrueckii</i> ATCC 9649	<i>L. helveticus</i> NCDO 2712 T	<i>L. acidophilus</i> ATCC 4356	<i>L. hilgardii</i> NCDO 264	<i>Lactobacillus</i> sp. (<i>vermiformis</i>) ATCC 13133
BC-Y009	---	145	136	146	3	4
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>Delbrueckii</i> ATCC 9649	88.93	---	76	73	142	143
<i>L. helveticus</i> NCDO 2712 T	89.16	93.94	---	21	134	134
<i>L. acidophilus</i> ATCC 4356	88.85	94.43	98.33	---	144	144
<i>L. hilgardii</i> NCDO 264	99.77	89.07	89.26	88.93	---	1
<i>Lactobacillus</i> sp. (<i>vermiformis</i>) ATCC 13133	99.69	88.97	89.21	88.90	99.92	---

비교에 포함된 1400 여개의 염기쌍 (base pair)중에 오른쪽 상단은 차이를 보이는 염기쌍수, 왼쪽 하단은 유사성을 백분율로 표기

<84> 【표 3】

아세트박터(*Acetobacter* sp.) BC-Y058 의 16S rDNA 염기서열 유사성비교

	BC-Y058	<i>A. diazotrophicus</i>	<i>A. liqfaciens</i>	<i>A. Hansenii</i>	<i>A. xylinum</i>	<i>A. europaeus</i>
BC-Y058	---	37	34	10	13	14
<i>A. diazotrophicus</i>	97.20	---	17	37	35	36
<i>A. liqfaciens</i>	97.42	98.71	---	34	32	33
<i>A. Hansenii</i>	99.24	97.20	97.42	---	15	16
<i>A. xylinum</i>	99.02	97.35	97.58	98.86	---	3
<i>A. europaeus</i>	98.94	97.27	97.50	98.79	99.77	---

비교에 포함된 1320 여개의 염기쌍 (base pair)중에 오른쪽 상단은 차이를 보이는 염기쌍수, 왼쪽 하단은 유사성을 백분율로 표기

<85> 균주 BC-Y009는 그람 양성이며 비운동성인 짧은 막대기 모양의 세균으로서 크기는

0.5-3.0 μm 이다. 포자를 형성하지 않으며 통성 혐기성이고, 생육 온도는 20℃-37℃, pH

2.0 내지 8.0 범위에서 자랄 수 있으며, 최적 pH범위는 4.0 내지 7.0이다. 우유

응고성, 카탈라제 음성을 나타내었고, 완전 배지(complex medium)에서 백색 콜로니를 형

성하였다. MRS 액체 배지와 BSH 액체배지에서 백색 캡슐 형태로 액체 배지 하층에 침착

되었으며, 액체 배지의 탁도는 맑고 투명한 배지 상태에서 식이섬유를 형성하며 액체 배지를 흔들면 잘게 부서지는 특성을 보였다.

<86> 균주 BC-Y058은 그람 음성인 간균 모양이며 0.6x0.8 μm 크기의 단일 또는 쌍을 이

룬 상태로 존재하였다. 운동성이 없고 포자를 생성하지 않았다. 생육이 느려 5-7일간

배양해야 하며, 콜로니는 작고 딱딱하고 액체 배지에서는 투명한 셀룰로오스 펠리클을

형성하였다. 에탄올, 초산 또는 젖산을 기질로 사용할 수 있고, 카탈라제 양성 반응을

보였다. 포도당을 이용하여 산을 생성하며, 호이어 배지에서는 생육하지 못하였다.

<87> 이상과 같이, 표현형과 16S rRNA 염기서열 분석을 통하여, 균주 BC-Y009를 락토바

실러스(*Lactobacillus* sp.) BC-Y009로, 균주 BC-Y058를 아세트박터 (*Acetobacter* sp.)

BC-Y058로 각각 명명하여 2000년 5월 30일 국제기탁기관인 유전자 은행 부설 KCTC에 각

각 기탁번호 KCTC BC-Y009와 KCTC BC-Y058로 기탁하였다.

<88> <실시예3>

<89> 식이섬유의 장내 소화효소에 의한 분해성

<90> 상기 미생물에 의해서 장내에서 생성되는 식이섬유가 장내 소화효소에 의해 분해되는지 여부를 확인하기 위해 아밀라제, 리파아제, 프로테아제, 뉴클레아제 등을 함유하며 3XJ.S.P 활성도를 가지고있는 포르신 판크레아틴(porcine pancreatin, Sigma사 제품) 1 g을 식이섬유 건량 1 g이 용해된 수용액(pH7.5)에 가하고 현탁시켰다. 이 현탁액을 40℃에서 7일간 배양하면서 1일 1회 반응액을 취해서 DNS당 정량을 실시한 결과, 전혀 분해되지 않았음을 확인하였다.

<91> 따라서, 본 발명의 미생물에 의해 생성된 식이섬유는 장내에서 분해되지 않음을 알 수 있었다.

<92> <실시예4>

<93> 생체내 포도당 흡수 속도

<94> 생리 활성 박테리아(probiotics)로 사용되고 있는 균주인 락토바실러스 아시도필러스(*L. acidophilus* KCTC3140), 락토바실러스 힐가디(*L. hilgardii* KCTC3500)와 함께, 상기의 락토바실러스 BC-Y009, 아세토박터 BC-Y002, 아세토박터 BC-Y058 및 대장균(*E. coli*)의 생체내 포도당 흡수속도를 측정하였다. 측정 결과를 도 1 및 표 4에 나타내었다.

<95> 도 1 및 표 4에서 볼 수 있는 바와 같이, 본 발명의 균주들은 다른 젖산균에 비해 생체내 포도당 흡수속도가 월등히 우수함을 알 수 있었다.

<96> 【표 4】

단위 시간 단위 O.D 의 균수에 의해서 감소된 글루코스 농도				
	초기 O.D.600nm	최초 Glucose 농도(mM)	1 시간후 Glucose 농도 (mM)	단위시간, 단위O.D.에서 감소된 Glucose 농도 (mM/hr/O.D.)
<i>E. coli</i>	3.0±0.1	110	85±0.5	8.3±0.44
BC-Y009	3.0±0.2	110	50±0.3	20±1.5
BC-Y002	3.0±0.1	110	30±0.7	26.6±1.1
BC-Y058	3.0±0.2	110	38.6±0.3	23.8±0.1
KCTC3500	3.0±0.2	110	67.2±0.3	14.2±0.4
KCTC3140	3.0±0.1	110	65.2±0.4	14.4±0.1

외국인

<97> <실시예5>

서하 결과

<98> 미생물 함유 사료 섭취 후 장관별 미생물 농도와 생존성

<99> 비만과 당뇨병을 유발하는 마우스인 C57BL/6J *Lep^{ob}* ob/ob (이하 'OB 마우스'라 함)

를 18시간 동안 절식시키고, 락토바실러스 BC-Y009, 아세트박터 BC-Y058를 1%(w/w, 건조
중량) 함유한 본 발명의 조성물을(조성물중의 미생물 수는 1.0×10^{13} CFU/g)를 7일간 섭
취시킨 후, 이들 마우스의 십이지장, 공장, 대장에서의 균 밀도를 조사하였다. 대조군
으로서 상기 미생물이 첨가되지 않은 사료를 7일간 섭취시킨 OB 마우스의 십이지장, 공
장, 대장에서의 균 밀도 또한 조사하였다.

실려

<100> 락토바실러스 균수를 측정하기 위해서 락토바실러스를 사료에 섭취시킨 군과 대조

250000

군의 십이지장, 공장, 대장을 떼내었다. 각 기관의 표면을 생리식염수로 수세한 다음
내용물을 생리 식염수에 분산시킨 후, MRS 한천 배지에 도말하여 37℃로 정치배양하였
다. 3일 후에 플락(floc) 형성의 유무로서 균수를 측정하고, 대조군에서의 락토바실러
스 균수를 차감하여 균체 증감을 판단하였다(표 5).

<101> 아세트박터 존재 유무를 측정하기 위하여 마우스의 각 기관을 떼내고 생리식염수로

기관의 외부를 수세한 다음, 내용물을 생리식염수에 분산시킨 후, BSH 액체배지에 접종

하고 37℃에 3일간 배양하였다. 액체 배지 상층에 나타난 박막(pellicle)의 형성 유무로 섬유소 생성 아세트박터 균체의 존재 여부를 판단하였다(표 6).

<102> 표 5와 표 6의 결과로부터 상기 두 종류의 미생물 모두 마우스의 장내에서 생육이 가능한 것을 알 수 있었다.

<103> 【표 5】

쥐의 십이지장, 공장, 대장의 락토바실러스(<i>Lactobacillus sp.</i>) 분포			
장기	무게(g)	균수 (CFU/g)	막형성 유무
십이지장	0.18±0.03	83±20	
공장	0.29±0.05	1.2× 10 ³ ±50	
대장	0.36±0.07	5.1× 10 ³ ±30	막형성

<104> 【표 6】

쥐의 십이지장, 공장, 대장의 아세트박터(<i>Acetobacter sp.</i>) 분포		
장기	무게(g)	막형성 유무
십이지장	0.20±0.02	
공장	0.28±0.04	막형성
대장	0.35±0.03	막형성

<105> <실시예6>

<106> BC-Y009, BC-Y058 섭취시의 혈당치 변화

<107> (주)삼양사로부터 구입한 마우스 사료 100g에 국내산 쌀 400 g을 섞어 탄수화물 비율을 약 60%로 구성한 후, 건조 중량 5 g(1%)의 락토바실러스 BC-Y009 또는 아세트박터 BC-Y058를 가하고 반죽하여, 마우스가 섭취하기 가능한 크기로 동결 건조시킨 경단을 제조하였다. 이 경단을 물과 함께 마우스에 제공하여 자유로이 섭취하도록 하였다.

<108> 본 실시예에서 사용된 마우스는 모두 암컷으로 비만과 당뇨병이 유발되는 OB 마우스

스였으며, 균 섭취균과 비섭취 대조균을 구분하기 위하여 아세토박터 섭취균(OB-058)과, 락토바실러스 섭취균(OB-009), 비섭취 대조균(균체가 없는 사료를 공급, OB-con)으로 분리 사육하였다. 사육환경은 12시간 간격으로 주기조명(09:00까지는 조명, 21:00-09:00까지는 차광)을 실시하였고, 온도와 습도는 각각 20내지 24 °C와 40 내지 60%를 유지하였다.

<109> 또한 상기에서 제조한 경단에 장용 피복 조성물 용액을 분무 피복하여 장용피 제제를 제조하였다. 본 발명의 장용 피복의 무게는 크기 1 개의 경단에 약 16 내지 30 mg 이하이며, 두께 5 내지 100 μm 의 피막으로 제조된다. 장용 피복의 재료는 공지의 고분자 물질들 중에서 적당히 선택되었으며, 셀룰로오스 아세테이트 프탈레이트 및 트리멜리테이트 또는 메타크릴산 공중합체(메틸아크릴산 40% 이상, 특히 히드록시프로필 메틸셀룰로오스 프탈레이트를 포함하는 메틸아크릴산 및 그의 에스테르로부터 유도된 공중합체)의 혼합물을 사용하였다.

<110> 메틸아크릴레이트로는 롬 게엠베하사 (Rohm GmbH, 독일)에 의해 시판 중인 엔드라지트 엘 (Endragit L 100-55)제품을 사용하였으며, 약 45 내지 90 cP의 점도와, 17 내지 26 %의 아세틸 함량 및 30 내지 40 %의 프탈레이트 함량을 갖는 셀룰로오스 아세테이트 프탈레이트와 이스트맨 코닥 캄파니 (Eastman Kodak Company)사가 시판하는 셀룰로오스 아세테이트 트리멜리테이트 제품(약 15 내지 20 cS의 점도와, 17 내지 26 %의 아세틸 함량, 25 내지 35%의 트리멜리틸 함량을 갖는 제품)이 사용되었다.

<111> 이렇게 제조된 장용 피복 용액을 코어에 분무하는 통상적인 피복법을 사용하여 제조하였으며, 에탄올과 아세톤 혼합 용매를 사용하였고, 연화제를 1 대 약 0.05 내지 약 0.3의 비율로 피복 용액에 첨가하였다.

- <112> 상기와 같은 방법으로 제조한 본 발명의 장용 피복 조성물을 물과 함께 마우스가 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였으며, 이러한 조성물이 투여된 마우스의 혈당치를 측정하였다.
- <113> 각 군 마우스의 혈당치를 측정하기 이전에, 각각의 마우스를 18시간 절식 시킨 후, 60분 동안 마우스에 충분한 양의 사료를 재공급하였고, 사료를 제거 후 다시 60분이 경과 후에 마우스의 안와정맥총(retroorbital venous plexus)에서 항 응고제가 없는 미세관관을 사용하여 혈액을 채취하여, 혈청을 얻었다.
- <114> 혈당치는 효소비색법을 이용한 트라인더 키트(Trinder kit)(Cat. 315-500, Sigma, USA)를 이용하여 분광광도계 505 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준용액을 기준으로 각각의 혈청에 대한 혈당치를 계산하였다. 이렇게 나온 실험결과의 통계적 유의성은 실험군 당 평균 ±표준편차로 표시하였고 각 군의 평균치의 통계적 유의성을 아노바(ANOVA)로 검증하였다($p < 0.02$).
- <115> 혈당치 측정 결과를 도 2에 나타내었다. 도 2에서 볼 수 있는 바와 같이, 혈당치는 OB-con군에서는 약 500 mg/dl 정도로 높게 나타난 반면, OB-058군의 혈당치는 정상 C57BL/6J 마우스(이하 'Lean 군'이라 함)의 혈당 수치와 비슷한 낮은 혈당치를 보이는 것을 알 수 있다. 또한, 아세트박터 BC-Y058, 락토바실러스 BC-Y009 투여에 의해 마우스의 혈당치는 각각 약 70%, 53% 정도 감소됨을 알 수 있다(표 7).

<116> 【표 7】

아세트박터 BC-Y058 및 락토바실러스 BC-Y009 투여에 의한 식후 혈당치

	OB-009	OB-058	OB-con
혈당치 (mg/dl)	229±16	141±19	492±60

<117> <실시예7>

<118> BC-Y058 및 BC-Y009 섭취시 체중과 식이량의 변화 및 그에 따른 대사효율의 변화

<119> 마우스를 OB-058군, OB-009군, OB-con군, Lean-009군, Lean-058군 및 Lean-con군으

로 분류하여 군에 따라 아세트박터 BC-Y058과 락토바실러스 BC-Y009를 투여하면 마우스의 체중을 일주일 간격으로 측정하였다. 또한, 마우스 체중 변화와 함께 마우스가 소모한 사료의 무게를 측정하였고, 그에 따른 그룹간 대사 효율의 변화를 조사하였다. 이 때

<120> 마우스의 체중 변화는 유전적 특성이 다른 종간의 체중 변화가 분명했으나 유전적

특성이 동일한 그룹에서의 체중 변화의 차이는 나타나지 않았다. 표 8에서 볼 수 있는

바와 같이, 7주간의 체중변화는 OB 마우스의 경우 아세트박터 BC-Y058 또는 락토바실러

스 BC-Y009 투여 유무에 상관없이 약 47%씩 동일하게 증가하였고, Lean 마우스의 경우

역시 BC-Y058, BC-Y009 투여에 상관없이 체중이 약 27% 증가하였다. 그러나 표 9와 표

10에서 볼 수 있듯이, 군 투여에 따른 사료의 섭취량은 OB 마우스 그룹에서 상대적으로

17 내지 24%정도, Lean 마우스 그룹에서는 약 15 내지 23% 정도 증가하는 것으로 나타났다.

<121> 즉, 본 발명에 의한 미생물 첨가 사료를 섭취하는 경우 사료를 더 많이 섭취하더라

도 미생물 미첨가 사료를 섭취하는 경우와 같은 정도의 체중증가를 유발하는 것을 알 수

있었다. 이러한 결과로부터 아세트박터 BC-Y058 또는 락토바실러스 BC-Y009에 의해서

식후 혈당치의 상승이 억제됨으로 이에 대한 보상작용으로 보다 많은 사료를 섭취하게

된 것으로 판단된다. 이러한 대사효율의 차이는 투여한 BC-Y058 또는 BC-Y009의 포도당

소모와 BC-Y058 혹은 BC-Y009에 의해 생성된 식이섬유의 영향 때문이라고 할 수 있다.

<122> 하기 식에 따라 사료 섭취에 따른 에너지 효율의 변화를 계산하여 표 10에 나타내었다.

<123>
$$\text{에너지대사효율} = \frac{\text{체중변화(g)}}{\text{섭식량(g)}} \times 1,000$$

<124> 표에서 볼 수 있듯이, OB 마우스와 정상 마우스(Lean 마우스) 모두에 미생물을 투여한 경우, 미생물을 투여하지 않은 경우에 비교하여 에너지 대사효율이 약 75 내지 85% 정도로 나타났다(도 3, 도 4).

<125> 【표 8】

마우스 체중의 변화 (g)		n=4						
	1	2	3	4	5	6	7	
OB-009	21.5±3.21	26.53±2.72	31.52±3.01	34.91±2.5	37.6±2.53	40.1±1.74	41.4±1.47	
OB-058	21.95±5.3	26.75±4.60	31.65±2.33	35.8±1.27	38.25±0.78	40.35±0.64	41.25±0.21	
OB-con	21.4±2.83	26.3±1.56	31.9±0.99	35.8±2.12	38.35±2.33	40.1±2.69	41.75±3.61	
Lean-009	15.7±1.12	17.2±1.19	19.42±0.94	20.1±1.42	20.8±1.12	21.38±1.5	21.5±0.92	
Lean-058	13.75±0.07	16.25±0.35	16.75±0.21	17.85±0.21	18.05±0.07	18.85±0.35	19.25±0.78	
Lean-con	16.05±1.77	18.5±1.27	20.25±2.05	20.85±1.91	22.15±1.06	21.65±0.78	21.85±2.47	

<126> 【표 9】

아세트박터 BC-Y058, 락토바실러스 BC-Y009 투여에 따른 마우스 사료 섭취량의 변화 (g)

	0-16 일	16-21 일	21-34 일	34-41 일	합계
OB-009	146.3	32.4	110.7	38.6	328
OB-058	157.4	34.3	115.3	41	348
OB-con	128.1	34.8	80.3	36.5	279.7
Lean-009	101	20.4	80.5	34.0	235.9
Lean-058	105	19.8	96.3	31.7	252.8
Lean-con	98.9	20.5	56	29.9	205.3

<127> 【표 10】

에너지 대사 효율

	섭식량 (g)	체중변화 (g)	효율	몸무게평균 (g)	몸무게 증가비율
OB-009	328	19.9	121	41.4	0.48
OB-058	348	19.3	111	41.25	0.47
OB-con	279.7	20.35	146	41.75	0.49
Lean-009	235.9	5.8	49	21.5	0.27
Lean-058	252.8	5.5	44	19.25	0.29
Lean-con	205.3	5.8	57	21.85	0.27

<128> <실시예8>

<129> BC-Y058 또는 BC-Y009 섭취시 비만 마우스의 체중 및 식이량의 변화와 그에 따른 대사 효율의 변화

<130> 아세트박터 BC-Y058 및 락토바실러스 BC-Y009를 섭취시키기 이전에; 마우스에 비만을 유도하기 위하여 골드티오글루코스(goldthioglucose)(Cat. A-0632, Sigma, USA)를 마리당 1 g/kg씩 주사하고, 3 내지 4주간의 체중 변화를 측정하여 비만이 유도된 마우스만을 선별하였다. 실험의 정확성을 위해 체중 증가율이 상대적으로 크거나 혹은 작은 마우스는 배제하였다.

<131> 암컷 C57BL/6J 마우스종을 대상으로 하여, 사육 환경 및 조건을 실시예 6에 언급한 방법과 동일하게 적용하였다. 섭취시키는 군중에 따라 BC-Y058군, KCTC3140군, KCTC3500군, BC-Y009군으로 분류하여 실험하였다.

<132> 투여한 군에 따른 마우스의 체중 변화를 도 6에 나타내었다. 도 6으로부터 아세트박터 BC-Y058, 락토바실러스 BC-Y009를 섭취시켰을 때 체중 증가 비율이 감소되는 양상을 볼 수 있다.

<133> 또한, 표 11과 도 7에서 볼 수 있듯이, 섭취된 당은 소모하지만 식이섬유는 생성하

지 않는 KCTC3140, KCTC3500의 경우, 비만 유도 마우스에서 에너지 효율이 군체를 투여하지 않은 대조군에 비해 높게 나타나 있다. 그러나 식이섬유를 생성하는 BC-Y009 및 BC-Y058을 섭취시킨 마우스 군에 있어서는 상대적으로 적은 에너지 효율을 보이고 있으며, 특히 BC-Y058의 경우 에너지 효율은 대조군에 비하여 55%까지 감소하여 정상 마우스 수준에 근접한 에너지 효율을 보였다(표 12 참조).

<134> 【표 11】

약물투여로 유도된 비만 마우스 대사효율 (g)

	체중변화	섭식량	효율
Carbohydrate	5.43	103.7	52
KCTC3140	6.65	92.4	72
KCTC3500	5.67	102.2	55
BC-Y009	4.38	104.4	42
BC-Y058	2.98	102.7	29

<135> <실시예9>

<136> BC-Y058 또는 BC-Y009 섭취시 정상 마우스의 체중 및 식이량의 변화와 그에 따른 대사 효율의 변화

<137> 본 실험에 사용된 마우스는 모두 암컷 C57BL/6J 마우스 종으로, 사육 환경 및 조건은 실시예 6에 언급한 방법과 동일하게 적용하였다. 실험에 실시한 마우스를 섭취시키는 군중에 따라 KCTC3500군, KCTC3140군, BC-Y058군, BC-Y009군, 및 군을 투여하지 않은 대조군으로 나누어 실시예 6과 같이 제조된 사료를 공급하였다. 투여한 군에 따른 마우스의 체중 변화는, 실시예 8에서의 경우와는 달리, 아세트박터 BC-Y058 및 다른 균주를 섭취시켰을 때는 나타나지 않았다. 또한, 표 12에 나타난 것과 같이 정상 마우스를 대상으로 했을 경우 식이 섬유 생성 유무와는 관계없이 에너지 효율의 차이점은 크지 않다는 것을 알 수 있다.

<138> 실시예 8과 9에서 볼 수 있듯이, 아세트박터 BC-Y058 및 락토바실러스 BC-Y009를 섭취시켰을 때 체중 및 식이량의 변화와 그에 따른 대사 효율의 변화는 약물 투여로 유도된 비정상적인 비만 마우스에 대해서만 효과를 나타낼 뿐, 정상적인 마우스에서는 변화 없이 정상 변화를 보이지 않았다.

<139> 【표 12】

일반 마우스 대상 에너지 대사효율 (g)

	체중변화	섭식량	효율
Carbohydrate	3.53	132.7	27
KCTC3140	3.10	142.0	22
KCTC3500	3.03	111.5	27
BC-Y009	3.95	129.1	31
BC-Y058	3.48	132.0	26

<140> <실시예10>

<141> BC-Y058 또는 BC-Y009 섭취시 지방질 분포와 그 변화

<142> 본 발명에 의한 미생물을 섭취할 경우, 혈청 지질, 특히 콜레스테롤의 변화를 분석하여 당뇨와 비만 등의 질병 뿐 아니라 순환기성 질병(동맥경화, 심근경색등)의 감소에 대한 효과가 나타나는지 여부를 확인하였다.

<143> 지방질의 분석은 실시예 6에서와 같이 효소비색법을 사용하여, TG-glycezyme-V (榮研化學, 일본), HDL-zyne-V (榮研化學, 일본), Cholestezyme-V (榮研化學, 일본), LDL cholesterol (Cat. 61532, BioMeriux, 프랑스)등을 이용하여 505-570nm에서 표준 용액과 함께 흡광도를 측정함으로써, 혈청에 존재하는 각 지방질의 양을 계산하였다.

<144> 표 13에서와 같이, 사료 투여전 지질 함량은 비만 마우스 그룹에서 차이점을 보이지 않았으며, 또한 정상 마우스 그룹간에도 차이점을 보이지 않고 있다. 그러나 아세트

박터 BC-Y058, 락토바실러스 BC-Y009을 섭취 하였을 때는 표 14에 나타난 것과 같이 7주 후 지질 함량의 변화가 발생함을 볼 수 있었다.

<145> 미생물을 섭취한 비만 마우스의 경우, 실험 초기와 비슷한 수준의 지질 분포를 유지하고 있음을 알 수 있으나, 비섭취 대조군의 경우, 혈중내에 전반적인 지질함량이 증가하는 경향을 나타내었고, 정상 마우스 경우 미생물 섭취 유무와 상관없이 큰 지질함량의 변화를 나타내지 않는 않았다.

<146> 따라서, 아세트박터 BC-Y058 및 락토바실러스 BC-Y009의 섭취는 정상적인 지질 대사와 대사에는 영향을 주지 않으며, 오히려 비정상적인 대사 상태의 지질 변화를 막아주어 순환 기성 질병(동맥경화, 심근경색 등)의 감소에도 효과를 나타낼 수 있음을 예측할 수 있었다.

<147> 【표 13】

사료 투여전 혈중내 지질함량 (mg/dl)		n=4		
	Total cholesterol	TG	HDL-C	LDL-C
OB-009	130.22±4.11	98.1±11.4	98.73±9.7	4.18±2.36
OB-058	129.37±4.24	101.6±10.36	113.52±15.47	3.35±2.08
OB-con	127.57±4.32	97.13±14.64	96.86±7.61	6.62±2.78
Lean-009	80.46±6.72	80.62±20.5	56.79±8.7	3.35±2.08
Lean-058	78.01±7.97	81±25.40	54.47±1.43	3.35±1.39
Lean-con	76.37±16.94	63.34±14.21	44.2±16.42	4.33±1.39
Lean-chow	82.71±9.30	128.79±23.25	66.75±7.85	1.88±2.08

* P<0.05, ** not significant

TG : Triglyceride

HDL-C : High Density Lipoprotein Cholesterol

LDL-C : Low Density Lipoprotein Cholesterol

<148>

【표 14】

사료 투여후 혈중내 지질함량 (mg/dl)		n=4		
	Total cholesterol	TG	HDL-C	LDL-C
OB-009	167.04±1.12	100.76±3.2	157.71±2.4	4.2±2.08
OB-058	135.25±2.47	98.5±2.83	135±1.41	3.36±1.31
OB-con	174±1.41	110.5±1.06	165.25±1.06	3.19±0.36
Lean-009	80.44±1.76	67.4±2.71	60.31±2.76	3.78±0.82
Lean-058	82.50±2.12	75.75±1.06	56.75±1.06	4.87±0.95
Lean-con	77.5±2.47	72.75±1.06	25.5±1.41	3.36±0.46
Lean-chow	86.75±0.35	112.25±1.06	76±0.71	3.02±0.46

* p<0.05, ** not significant
 TG : Triglyceride
 HDL-C : High Density Lipoprotein Cholesterol
 LDL-C : Low Density Lipoprotein Cholesterol

* significant

<149> 이상과 같이 본 발명의 구성과 바람직한 실시예를 본 명세서에 기재하였으나, 본 발명의 권리 범위는 기재된 실시예에 제한되는 것으로 해석되어서는 아니되며, 당업자라면 본 발명의 권리 범위내에서 본 명세서에 기재된 내용의 변형을 실시할 수 있을 것이다.

【발명의 효과】

<150> 본 발명의 미생물은 장내에서 생존하면서, 단당류, 이당류등의 탄소화합물을; 소장 또는 대장에서 흡수되지 아니하는 고분자량의 물질로 전환시킴으로써, 체내로 흡수되는 탄소화합물의 양을 줄여주고, 대사활동에 필요한 에너지는 체내에 축적되어 있는 체지방, 단백질로부터 공급되도록 하여, 비만 및 당뇨를 억제한다. 또한 장내에서 식이섬유를 생성시켜 인체에 해로운 물질들과 함께 체외로 배출토록 하므로써, 정장 작용, 콜레스테롤 흡수 억제, 대장암 예방, 맹장염 예방의 효과를 나타낸다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

다당류 물질을 생성시키는 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) BC-Y009 (KCTC-0774BP).

【청구항 2】

다당류 물질을 생성시키는 아세트박터 속 (*Acetobacter sp.*) BC-Y058 (KCTC-0773BP).

【청구항 3】

다당류 물질을 생성시키는 아세트박터 속 (*Acetobacter sp.*) 박테리아, 락토바실러스 속 (*Lactobacillus sp.*) 박테리아, 락토코커스 속 (*Lactococcus sp.*) 박테리아들로 이루어진 군에서 선택되는 미생물의 약학적 유효량과 담체로 이루어진 비만증 예방치료용 제제.

【청구항 4】

제3항에 있어서, 상기 미생물이 아세트박터 자일리눔 (*Acetobacter xylinum*), 아세트박터 BC-Y058 (*Acetobacter BC-Y058*), 아세트박터 한세니 (*Acetobacter hansenii*), 아세트박터 파스테리아누스 (*Acetobacter pasteurianus*), 아세트박터 아세티 (*Acetobacter aceti*), 락토코커스 크레모리스 (*Lactococcus cremoris*), 락토바실러스 BC-Y009 (*Lactobacillus BC-Y009*), 락토바실러스 헬베티쿠스 (*Lactobacillus helveticus*), 락토바실러스 불가리쿠스 (*Lactobacillus bulgaricus*), 락토바실러스 사케 (*Lactobacillus sake*), 락토바실러스 류테리 (*Lactobacillus reuteri*), 락토바실러스 락티스 (

Lactobacillus lactis), 락토바실러스 델브뤼키의 아종 () 그리고 락토바실러스 헬베티
쿠스글루코스의 변종 ()으로 이루어진 군에서 선택되는 것임을 특징으로하는 비만증 예
방치료용 제제.

【청구항 5】

제4항에 있어서, 상기 미생물의 약학적 유효량과 담체로 이루어진 조성물을 장용 피복
피복 물질로 피복시킨 것을 특징으로하는 비만증 예방치료용 제제.

【청구항 6】

다당류 물질을 생성시키는 아세토박터 속 (*Acetobacter sp.*) 박테리아, 락토바실리
스 속 (*Lactobacillus sp.*) 박테리아, 락토코커스 속 (*Lactococcus sp.*) 박테리아들로 이루어진
군에서 선택되는 미생물의 약학적 유효량과 담체로 이루어진 당뇨병 예방치료
용 제제.

【청구항 7】

제6항에 있어서, 상기 미생물이 아세토박터 자일리눔 (

Acetobacter xylinum), 아세트박터 BC-Y058 (*Acetobacter BC-Y058*), 아세트박터

한센니(*Acetobacter hansenii*), 아세트박터 파스테리아누스 (), 아세트박터 아세티 (

Acetobacter aceti), 락토코커스 크레모리스 (), 락토바실러스 BC-Y009 (*Lactobacillus*

BC-Y009), 락토바실러스 헬베티쿠스 (*Lactobacillus helveticus*), 락토바실러스 불가리 (*Lactobacillus*

조성물을 스 (*Lactobacillus*), 락토바실러스 사케 (*Lactobacillus sake*), 락토바실러스 류테리 (+), 락토바실러스

러스 락티스 (*Lactobacillus lactis*), 락토바실러스 델브뤼키의 아종a(*Lactobacillus delbrueckii*

delbrueckii subsp.) 그리고 락토바실러스 헬베티쿠스글루코스의 변종 (*Lactobacillus helveticus*

helveticusglucos var. jugurti)으로 이루어진 군에서 선택되는 것임을 특징으로하는

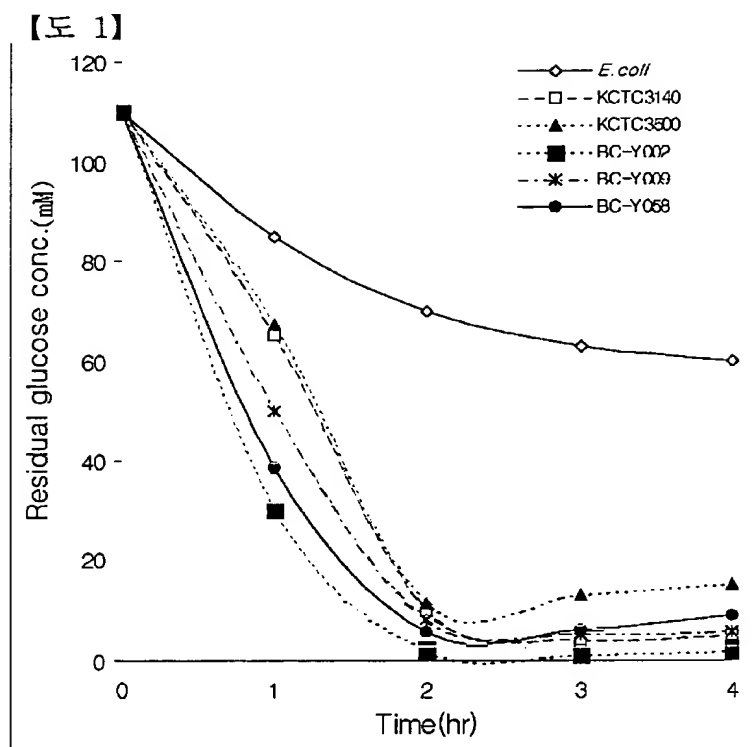
), 락테리아들도 당뇨병 예방치료용 제제,

당뇨병 예방차【청구항 8】.

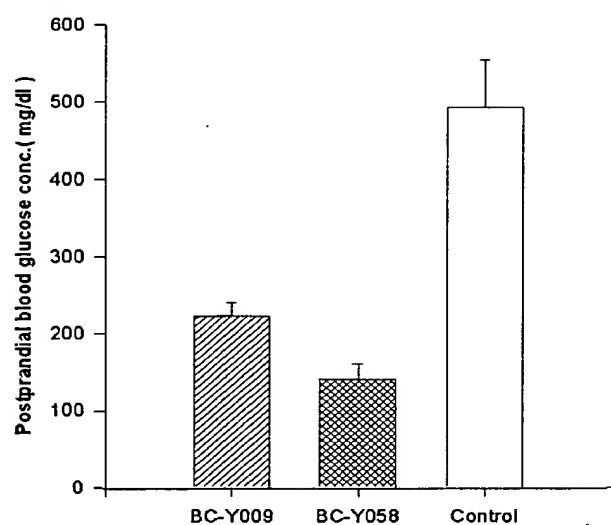
제7항에 있어서, 상기 미생물의 약학적 유효량과 담체로 이루어진 조성물을 장용
피복 물질로 피복시킨 것을 특징으로하는 당뇨병 예방치료용 제제.

12/1
박토바
박토바
박토바
박토바

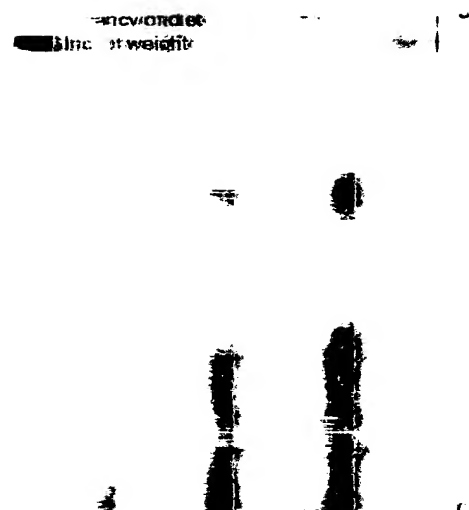
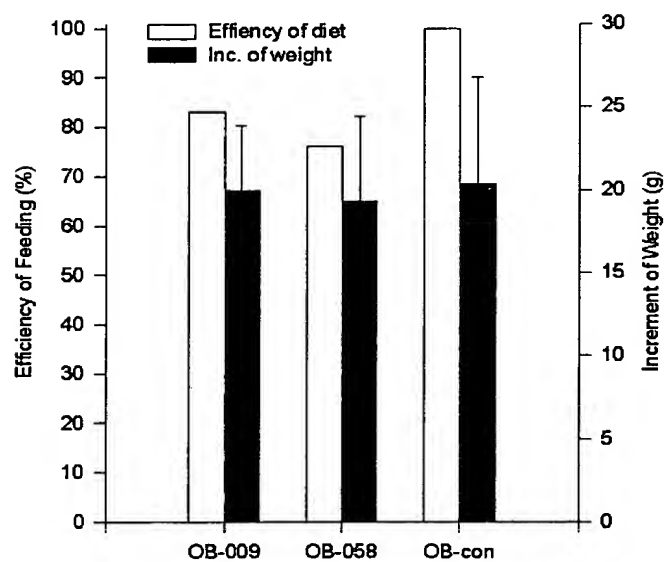
【도면】



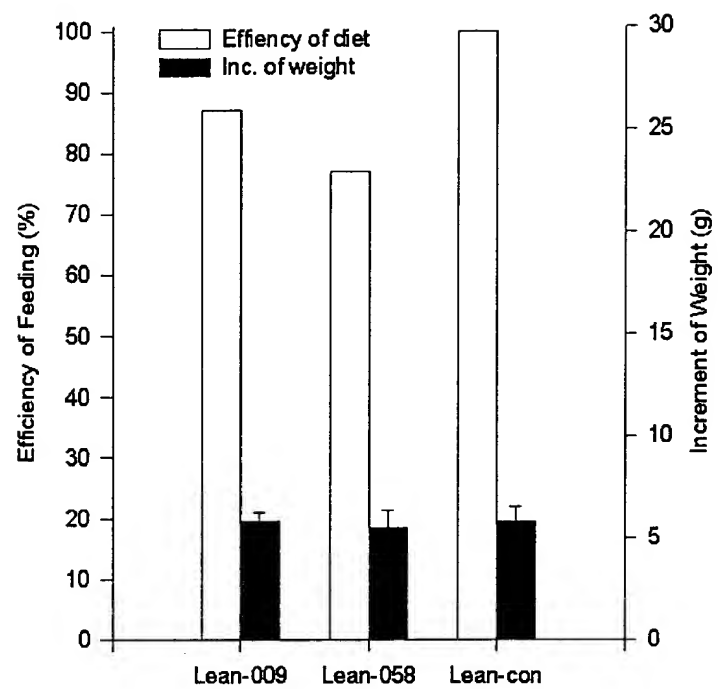
【도 2】



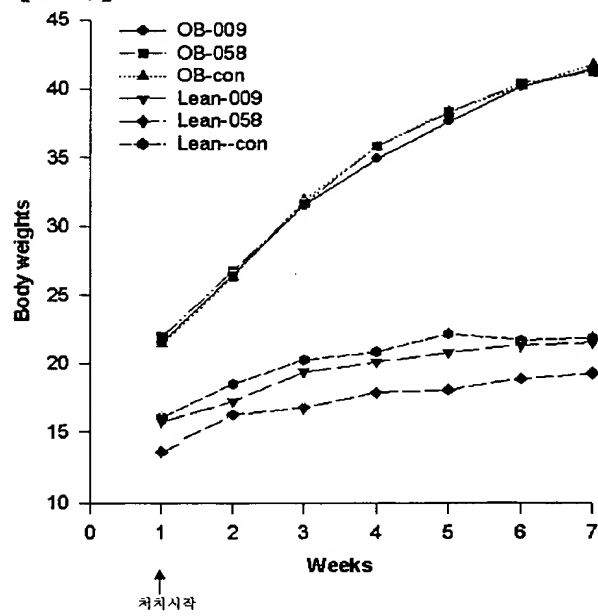
【도 3】

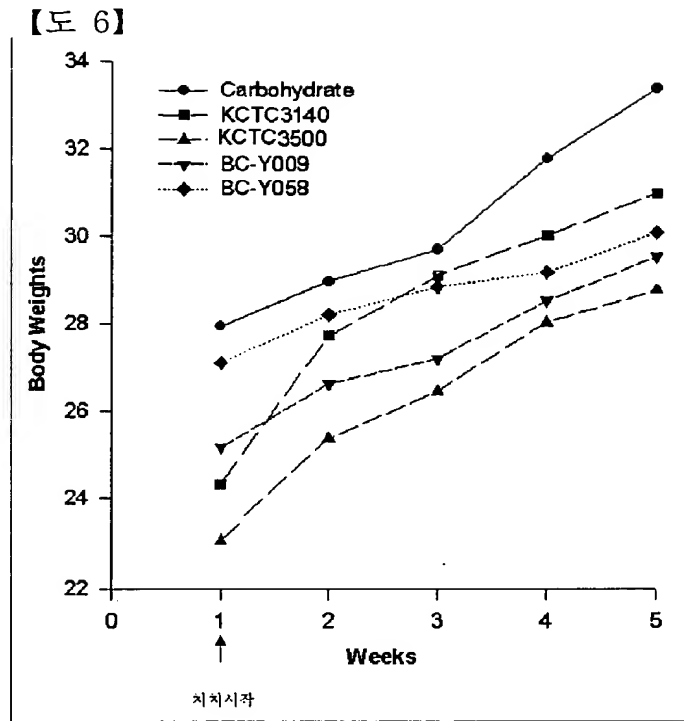


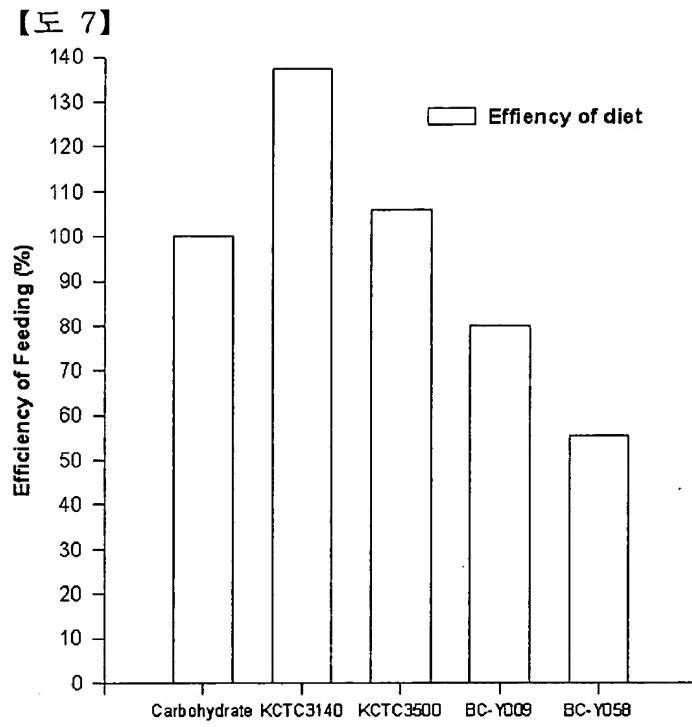
【도 4】



【도 5】

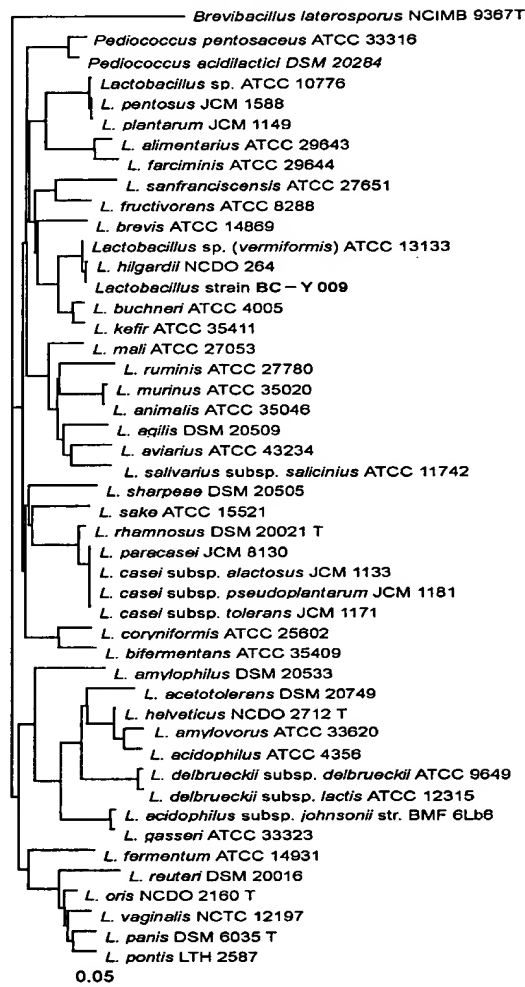






【도 8】

락토바실러스 BC-Y009 의 계통분석도



【도 9】

아세트박터 BC-Y058 의 계통분석도

